Lane Medical Library

Aus dem Hygienischen Institut
der Albertus-Universität zu Königsberg (Pr)
Direktor: Professor Dr. Bürgers

STANFORD UNIVERSITY
15
MAR
1939
LIBRARY

Beiträge zur Biologie der Gonokokken.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albertus-Universität zu Königsberg (Pr)

vorgelegt von

Helmut Blaseio
approb. Zahnarzt

Königsberg (Pr)
1936

Inh. Raabe, Königsberg-Pr.

Referent: Prof. Dr. Bachmann
Korreferent: Prof. Dr. Bürgers

Geschichtliches.

Mythen der Inder, Babylonier, Assyrer, Syrer und Griechen berichten bereits von genitalen Leiden, deren gonorrhoischen Charakter man mit Bestimmtheit zu erkennen glaubte. Im Papyrus Ebers, dem Hauptdokument der altägyptischen Medizin, ist von einer „Entzündung im Uringang" die Rede, Injektion adstringierender Substanzen in die Vulva und arzneigetränkte Tampons kamen dabei zur Verwendung. In der Bibel und im Talmud finden sich manche auf Gonorrhoe hinweisende Stellen, Moses erließ strenge prophylaktische Vorschriften: „Jeder Mann, der aus seinem Fleische fließt, ist unrein. Wer sein Lager oder ihn selbst berührt, sich auf ein von ihm benutztes Sitzgerät setzt oder seine Satteldecke berührt oder trägt, muß seine Kleider waschen, selbst baden und ist unrein bis zum Abend." (Lev. 15, 36 ff.)

Der Grieche Galen unterschied bereits differentialdiagnostisch zwischen Uretritis und Cystitis. Caelus Aurelianus (4. Jahrhundert n. Chr.) führt Schmerzen, Blutung und Eiterabsonderung auf Geschwürsbildung in der Harnröhre zurück, während Paulus von Aegina (625—690) geradezu von einem eitrigen oder blutigen Ausfluß aus der Urethra spricht, der unabhängig vom Urinieren erfolgt, mit einer Affektion der Urethra zusammenhängt und durch Einspritzungen von Milch und Honig und Einführung von Bougies zu heilen ist. Die Schilderungen des Galen, Aretaeus, Alexander von Trallus lassen deutlich erkennen, daß sie chronisch gonorrhoische Zustände beobachtet haben. Unmäßigkeit im geschlechtlichen Verkehr, mitunter aber auch die Folgen der Abstinenz werden als Ursachen angesehen.

Therapeutisch wurden ziemlich wirre Maßnahmen angewandt: Diät, Aderlässe, Emetica und Pflanzensäfte.

Im frühen Mittelalter setzt sich die Kenntnis von der Kontagiosität der Gonorrhoe und ihrer Verbreitung durch den Coitus allmählich durch. Der Zustand mystischer Erregung, der die Seelen bewegte, warf seine Schatten auch auf die Heilwissenschaft. Die Dämonie der Krankheit verdrängte, wie bei allen primitiv Denkenden, jede sachliche Fragestellung. Als Strafe Gottes, als durch die Gestirne besiegeltes Verhängnis machte die Krankheit aus Leidenden und Hilfsbedürftigen schuldige und geächtete Menschen.

Durch den gewaltigen Ausbruch der Syphilis am Ende des 15. Jahrhunderts erlischt das Interesse für die Gonorrhoe fast völlig. Aller Eifer wandte sich der Erforschung der neuen Krankheit zu. Es beginnt die unglückselige Verkettung der beiden Krankheitsbegriffe, die Identitätslehre wird begründet, um erst nach Jahrhunderten einer besseren Einsicht zu weichen.

Das 17. Jahrhundert steht im Zeichen erfolgreicher pathologisch-anatomischer Forschungen, die in dem Werk Morgagnies ihren vorläufigen Höhepunkt finden sollten. Nachdem die Annahme eines spezifischen Kontagiums für die Lustseuche als gesichert galt, die Erkennung des eitrig-entzündlichen Charakters des Harnröhrenflusses die Bezeichnung „Pyorrhoe" aufkommen ließ, mühte man sich nun eifrig, den anatomischen Sitz dieses Leidens näher zu bestimmen. Der erste, der in dem Tripper eine Entzündung der Harnröhrenschleimhaut sah, war Musitano (1689).

Erst in der Mitte des 18. Jahrhunderts entstand der Dualitätsgedanke zwischen Tripper und Syphilis, um durch eine heftige Reaktion auf lange Zeit hinaus wieder verbannt zu werden.

Alle Fortschritte in der Erkennung der Gonorrhoe als Krankheitsbild sui generis wurden durch ein einziges, folgenschweres Experiment auf Jahrhunderte hinaus vernichtet. 1767 inokulierte sich der berühmte John Hunter, Glans uns Penis mit vermeintlichem Trippersekret, es entwickelten sich im Anschluß daran Schanker und konstitutionelle Syphilis: Die Identität des Virus schien durch dieses kühne Experiment erwiesen! Ein ganzes Jahrhundert stand im Banne der hervorragenden Persönlichkeit Hunters.

Erst die ausgedehnten experimentellen Untersuchungen, die Ricord 1831—1837 anstellte, schufen für die Dua-

litätslehre einwandfreie und exakte Grundlagen, wenn er auch die irrige Ansicht vertrat, daß der Tripperinfektion kein spezifisches Virus zugrunde liege. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war: Trennung von Tripper und Syphilis. Aber die Gegner der Dualitätslehre gaben nicht nach, und erst die Großtat der Gonorrhoeforschung, die Entdeckung des Gonokokkus durch Neisser 1879, vermochte sie zum Schweigen zu bringen.

Die Angaben Neissers wurden zuerst von Bokai und Finkelstein bestätigt 1880, dann folgte eine Flut von Nachuntersuchungen (Aufrecht, Löffler, Hirschberg, Bockhardt, Zweifel u. a.). Trotz mancher Bedenken und Einwände war die Konstanz der Gonokokken im Trippersekret nicht zu leugnen.

Zahlreiche Kulturversuche wurden unternommen, es erschien die wichtige Arbeit Bumms 1885, dem es gelungen war, die Gonokokken auf koaguliertem, menschlichen Placentaserum in Reinkultur zu züchten und durch die Weiterübertragung auf die weibliche Urethra den einwandfreien und endgültigen Beweis für die Spezifität der Neisser'schen Kokken zu erbringen. Roux (1886) machte auf die differentialdiagnostische Bedeutung der Entfärbung nach Gram aufmerksam.

Auch die Therapie hatte nun endlich einen festen Stützpunkt für systematische und zweckmäßige Maßnahmen gewonnen. Von großem Wert war die Einführung der organischen Silbersalze, deren baktericide Wirkung alle bisher gebräuchlichen Medikamente übertraf. Die Spülmethoden Janets und Guyons, die Zweigläserprobe Thompsons, der Gebrauch von Dilatatoren (Fessenden — Otis) und die Abortivkur (Blaschko), schließlich die Vaccine- und unspezifische Reizkörpertherapie sind die Stützpunkte des heutigen Heilprogramms geworden. Aber noch ist die Biologie des Erregers und die Struktur der Krankheit in entscheidenden Punkten zu klären.

Spezieller Teil.

Das Krankenmaterial erhielt ich aus der hiesigen Hautklinik und dem Garnisonslazarett. Mit einer sterilen Plantinöse von ungefähr 2 mm Durchmesser nahm ich zunächst eitriges Sekret von der Harnröhre ab und verstrich

es auf das oberste Drittel des Ascitesagar. Dann impfte ich mit einer Oese von ungefähr 6—7 mm Durchmesser vom letzten Impfstrich ab und verstrich das auf den Rest der Platte. Außerdem beschickte ich einen Objektträger mit dem eitrigen Sekret, achtete aber darauf, daß es nicht in zu dicker Schicht auf den Träger kam. Diese Abstriche machte ich nur bei männlichen Kranken und zwar handelte es sich um akute Fälle. Bei chronischen Fällen zum Nachweis der Gonokokken empfiehlt J. Szilvasi-Sopron, den Kranken vor Gewinnung des Abstrichs urinieren zu lassen, wodurch das eitrige Sekret aus der Harnröhre entfernt wird. Dadurch soll man Leukocyten-freie Abstriche gewinnen, in denen die Gonokokken extrazellulär in Gruppen und Haufen liegen.

Das Präparat auf dem Objektträger ließ ich an der Luft trocknen und fixierte es durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme. Zur Färbung bediente ich mich in jedem Falle der Methode nach Gram:

2 Minuten Carbolgentianaviolett.
1 Minute Lugolsche Lösung.
Entfärben mit 96prozentigem Alkohol.
Abspülen mit Wasser.
15 Sekunden Nachfärben mit Fuchsin.

Man geht am sichersten folgendermaßen vor: Das Carbolgentianaviolett läßt man 2 Minuten einwirken und gießt es dann ab. Dabei muß man streng darauf achten, daß der ganze Ausstrich hoch mit der Flüssigkeit aufgefüllt wird. Nun wird die Lugolsche Lösung ungefähr 1 Minute aufgebracht und abgegossen. Dann beginnt die Entfärbung mit Alkohol, die solange ausgeführt werden muß, bis keine Trübung des Alkohols mehr eintritt. Dann wird mit Wasser abgespült, 15 Sekunden mit Fuchsin nachgefärbt und mit Fließpapier abgetrocknet.

Falsch ist es, zwischen die einzelnen Phasen noch Wasserspülungen einzuschalten, da dadurch die Färbung nur ungenau wird. Die Gonokokken sehen dann nicht mehr rot aus, sondern sie erhalten eine hellblaue Färbung.

Fauth schlägt zur besseren Erkennung der Gonokokken im Ausstrichpräparat folgende Modifikation vor: Zur Nachfärbung nimmt man statt des üblichen Fuchsins das Pappenheim'sche Methylgrün-Pyronin. Alle Bakterien, mit Ausnahme jener, die bereits durch Carbolgentianaviolett blau bis schwarz gefärbt sind, nehmen das leuchtend rote

Pyronin an, während die Leukocyten des Methylgrün des Farbstoffgemisches annehmen. Die Färbbarkeit der Bakterien mit Pyronin wird durch die vorhergehende Behandlung mit Lugol und Alkohol nicht im geringsten beeinträchtigt; nur die im reinen Methylgrün - Pyroninpräparat blaßgrün gefärbten Gebilde erscheinen blaugrün tingiert. Man erhält so ein Methylgrün-Pyronin-Präparat, in dem die saprophytären Diplokokken blauschwarz gefärbt sind. In dem Gemisch der rotgefärbten Bakterien sind dann die Gonokokken durch Form und Größe leicht erkennbar.

Ich habe nach jedem Versuch jeden Stamm zur Kontrolle nach Gram gefärbt und habe in allen Fällen gramnegative Gonokokken gefunden. Waren sie gramzweifelhaft, so lag es meiner Meinung nach am Färben oder der Zusammensetzung der Farbtinkturen. In einem Falle fand ich grampositive Kokken und Stäbchen, deren Kulturen den Gonokokkenkulturen sehr ähnelten. Es erwies sich aber, daß es sich um Verunreinigungen handelte, und daß der Stamm (Go 4) eingegangen war.

Dagegen will Milochevitsch in zwei Fällen akuter Gonorrhoe, in denen zunächst typische gramnegative Gonokokken nachweisbar gewesen waren, im weiteren Verlaufe grampositive Gonokokken gefunden haben. Diese wuchsen vornehmlich auf den vom Gonokokkus bevorzugten Nährböden. Sie sind nicht haemolytisch, zeigen fakultative Aerobie, sind dem Protargol gegenüber 4mal so resistent wie der Gonokokkus, an Größe diesem etwas überlegen. Durch schnell aufeinanderfolgende Passagen auf Ascitesbouillon wurden wieder gramnegative Gonokokken erzielt, mit denen auch experimentell eine akute Blennorrhagie hervorgerufen werden konnte. Es besteht also ein genetischer Zusammenhang zwischen dem grampositiven Diplokokkus und dem Gonokokkus.

Cohn hat feste und flüssige Nährböden mit Zusätzen von normalem Kaninchen- und Pferdeserum, von Immunseren verschiedenster Herkunft von Ascites, Gonokokkenbouillonfiltraten, Kaninchenleberextraten, Cholesterin und physiologischer Kochsalzlösung verwandt. Das Wachstum auf den verschiedenen Nährböden war unterschiedlich, niemals fand sich aber ein Umschlag des gramnegativen Verhaltens in das grampositive. Auch Züchtungsversuche der Gonokokken bei verschiedenen Temperaturen (37°, 18° und —4° C.) vermochten in keinem Falle eine Abweichung der

normalen biologischen Eigenschaften zu erreichen, insbesondere gelang es nicht, die Gramnegativität des Gonokokkus experimentell zu erschüttern.

Spicca berichtet, daß keine Neigung zur Grampositivität trotz der verschiedenen bei 8 Stämmen von Gonokokken ausgeführten Untersuchungen diesem Keime zugesprochen werden kann.

Volk fand bei der Untersuchung von 209 Ausstrichpräparaten akuter und behandelter männlicher Gonorrhoiker bei exakt durgeführter Färbung nach Gram in 23 Fällen (= 11 %) grampositive Gonokokken, die sich nach Form und Lagerung nicht von den typischen gramnegativen Gonokokken unterschieden.

Wie schon Neisser das Bild der Gonokokken schilderte, handelt es sich um Diplokokken von ganz charakteristischer Form. Nur seltener finden sich einzeln gelegene Exemplare, Jugendformen, die dann mehr oder weniger kugelrund aussehen. Hauptsächlich aber sind die Kokken als Pärchen angeordnet und zeigen dann ihre Kugelgestalt nur auf der dem Partner abgewandten Seite, während die einander zugekehrte Seite nicht nur abgeplattet, sondern meist in der Mitte des so entstehenden Spaltes etwas eingedellt ist. So gewinnt jedes Exemplar die Gestalt einer Kaffeebohne, die konkave Fläche einander zugewandt. Nach Lewinthal-Berlin beträgt die Größe des ausgewachsenen Diplokokkus etwa 1,6 in der Gesamtlänge, von der $^{2}/_{10}$ auf den Spalt, $^{4}/_{10}$ auf jeden Kokkus kommen, und 0,8 μ in der Breite. J. Szilvasi-Oedenburg fand, daß die Gestalt der Gonokokken nicht nur in der Kultur wandlungsfähig ist, sondern sich unter der Einwirkung von Schutzeinrichtungen und von der Eigenart des lebenden Nährbodens auch im menschlichen Körper ändert. Man soll Riesen- und Zwergformen, Vakuolen, Uvoid, Sporroid, Splasmoid und Mosaik-Typen finden. Alle diese Spielarten sollen auch infektiös sein. Die Gonokokken liegen im Eiter nicht nur frei zwischen den Zellen verstreut, sei es als einzelne Paare oder in den charakteristischen Haufen, sondern vor allem an diese Zellen gebunden. Neisser nahm ursprünglich an, daß die Bakterien allen Zellarten nur aufliegen, während schon Haab 1881 und später Bumm die richtige Deutung von der intrazellulären Lagerung gaben.

Bockhardt war noch der Meinung, daß die Kokken innerhalb der Schleimhaut aktiv in die Wanderzellen ein-

drängen und mit Hilfe dieser vom Organismus an die Oberfläche gebracht und unschädlich gemacht würden. Bumm dagegen ist der Ansicht, daß das Eindringen der Gonokokken in die Leukocyten erst im Sekret selbst außerhalb des Gewebes vor sich gehe. Eine passive Aufnahme der Gonokokken durch die Tätigkeit der Eiterzellen selbst, also eine echte Phagocytose hielt Bumm noch für unwahrscheinlich. Das Zustandekommen der intracellulären Lagerung kann nach der Ansicht von Scholtz und Jadassohn durch eine Einwanderung der Gonokokken in das Protoplasma der Eiterkörperchen, das Bumm, Bockhardt und Henke annahmen, für ausgeschlossen gelten, zumal eine Eigenbewegung der Gonokokken nicht existiert. Scholtz hat folgende Punkte, die für eine echte Phagocytose sprechen, angeführt:

1. Auch in frischem, mit Ascitesbouillon verdünntem und mit Gonokokken vermischtem menschlichem Eiter kann man eine Aufnahme der Gonokokken durch die Leukocyten beobachten.

2. Aufschwemmungen lebender wie toter Gonokokken, welche man in die Bauchhöhle von Meerschweinchen nach vorheriger Anregung einer Leukocytose injiziert, werden innerhalb ganz kurzer Zeit, oft schon nach wenigen Minuten, fast sämtlich von den Eiterkörperchen aufgefressen.

Felke begründet die intrazelluläre Lage der Gonokokken damit, daß ihnen die Reaktion des Protoplasmas zusagt. In der sauren Eiterflüssigkeit soll keine Vermehrung stattfinden. Dagegen wird im schleimigen, verdünnten Eiter wegen stärkerer Alkaleszenz das Wachstum nicht gehemmt, so daß hier sich der Unterschied zwischen intra- und extrazellulärer Lagerung ausgleicht.

Wie ich schon oben ausführte, benutzte ich zur Reinkulturzüchtung ausschließlich Ascitesagar mit folgender Zusammensetzung: Der fertige Nähragar mit einem Ph-Wert von 7,5 wird aufgelöst, entsprechend der zu gießenden Plattenzahl abgemessen, in einem Kolben von entsprechender Größe sterilisiert und dann auf etwa 50° abgekühlt. Es erfolgt dann die Zugabe von mindestens 30 % Ascitesflüssigkeit, die mit dem Agar durchgemischt wird. Der Nährboden wird wie der gewöhnliche Agar in Platten gegossen. Da die Ascitesflüssigkeit nicht durch Kochen sterilisiert werden kann, kam es oft vor, daß die Platten stark verunreinigt waren. Aus diesem Grunde züchtete ich die Stämme auch auf Lewinthal-Agar: Der gewöhnliche Nähragar Ph 7,5—7,6 wird aufgelöst und durch Zusatz von Bouillon mit gleichem PH-Wert soweit verdünnt, daß die

gegossene Probeplatte beim Berühren der Nährbodenschicht mit dem Finger oder der Platinöse gerade noch die notwendige Mindestfestigkeit zeigt. Der in dieser Weise vorbereitete Agar wird in einem Kolben, durch dessen Wattestopfen ein Thermometer in den Agar hineinragt, sterilisiert, dann auf etwa 55° abgekühlt und mit Blut versetzt. Meistens wird 8—10prozentiges defibriniertes Tierblut zugesetzt. Das Gemisch wird dann im Wasserbade auf 83—85° erhitzt und nach dem Knochen filtriert in Platten gegossen.

Die mit Eiter beimpften Platten ließ ich nun 24 Stunden im Brutschrank bei einer Temperatur von 36—38°. Auf der Platte sieht man dann oft neben Verunreinigungen Kolonien von 1 mm Durchmesser, die kreisrund durchscheinend sind und graublaues Aussehen haben. Von einer alleinstehenden Kolonie impfte ich dann mit einer Oese ab und beschickte damit eine Ascites- und eine Lewinthal-Platte. Auf diese Art erhielt ich neben einigen Mißerfolgen 15 verschiedene Stämme, die ich mit Go 1 bis Go 15 bezeichne. In den ersten Generationen sind die Kolonien auf der Lewinthal-Platte bedeutend kleiner als auf der Ascites-Platte, aber schon in der vierten bis fünften Generation haben sie fast dieselbe Größe erreicht. Das soll folgende Versuchsanordnung demonstrieren: Hierbei habe ich für jeden Stamm (Go 1 bis Go 9) je eine Platte mit Plastilinverschluß mitangelegt, deren Ausführung folgendermaßen aussieht: Der Deckel der Petrischale wird abgenommen und der andere Teil mit der Oeffnung auf eine sterile Glasplatte, die die Schale um wenigstens 1 cm überragt, gestellt. Nun verschließt man die beiden Glasplatten, dort wo sie sich aufeinanderlegen, mit Plastilin. Zu beachten ist, daß die Plastilinmasse nicht hart und spröde ist, da sie dann ihren Zweck, die Petrischale luftdicht zu verschließen, verfehlt. Den Versuch las ich nach 48 Stunden ab. Die Pluszeichen zeigen das Wachstum an. Ihre Anzahl die Größe und Ueppigkeit der Kulturen:

	Asc.	Lev.	Asc. m. Pl.	Lev. m. Pl.
Go_1	++	(++)	(+++)	++
Go_2	(+++)	++	(+++)	++
Go_3	(+++)	(+++)	+++	(+++)
Go_4	+	+	+++	(+++)
Go_5	++	(++)	+++	++
Go_6	(++)	+	++	(++)
Go_7	++	(++)	+++	++
Go_8	(++)	(++)	(+++)	(++)
Go_9	++	(++)	(+++)	++

Daraus ist zu ersehen, daß im Wachstum auf beiden Platten kaum ein Unterschied vorhanden ist, ferner aber, daß das Wachstum auf der mit Plastilin verschlossenen Platte bedeutend üppiger ist, worauf ich noch später zurückkommen werde.

Zur Feststellung der Lebensdauer der einzelnen Stämme ließ ich die betr. Platte solange im Brutschrank, bis die Kulturen abgestorben waren. Das stellte ich dadurch fest, daß ich jeden Tag auf eine neue Platte abimpfte. Gingen die Bakterien auf, dann lebte der Stamm noch, blieb die Platte steril, dann war der betr. Stamm tot. Diese Versuche führte ich ebenfalls auf Ascites und Lewinthal aus.

Go_1	3 Tage	3 Tage
Go_2	3 „	5 „
Go_3	4,3 „	5,7 „
Go_4	3 „	3 „
Go_5	4 „	6 „
Go_6	4 „	3 „
Go_7	4 „	6 „
Go_8	3 „	3 „
Go_9	3 „	4 „
Summe	34 Tage	45 Tage
Durchschnitt	3,4 „	4,5 „

Der Versuch ergibt, daß die Stämme auf Levinthal einen Tag länger leben, auf Ascites $3\frac{1}{2}$ Tage und auf Levinthal $4\frac{1}{2}$ Tage. Nach 3—4 Tagen, wenn die Kolonien ungefähr einen Durchmesser von 2—3 mm erreicht haben, erhalten sie ein ganz anderes Aussehen: Auf Ascites sieht man um einen vollen Kreis noch einen dicken Ring. Die Farbe ist milchig trübe. Auf Levinthal erblickt man eine kegelförmige weiße Spitze, von der die Kultur flach und trüb aussehend abfällt.

Anschließend daran interessieren Versuche, die P. Engering 1923 ausführte, um die Lebensfähigkeit der Gonokokken im Leitungswasser, Badewasser, die an Badetüchern und Schwämmen zu prüfen. Danach kommt der Verfasser zu dem Schluß, daß es falsch wäre, auf Grund einiger Versuche an einem Stamm, eine kurze Lebensfähigkeit im Wasser zu behaupten. Bei einer Temperatur von 22° blieben Gonokokkenaufschwemmungen im Trinkwasser bis 10 Stunden, desgleichen im Oberflächenwasser von Badebassins und im tiefen Wasser sogar 14 Stunden lebens-

fähig. Seifenwasser tötet die Gonokokken erst nach zwei Stunden, starke Sole nach einer Stunde. Feuchte und bei 37° gehaltene Schwammstückchen lassen Gonokokken bis 24 Stunden am Leben. Leinwandläppchen, die eher austrocknen, bedingen eine kürzere Lebensfähigkeit.

Zwei Züchtungsversuche auf reinem Agar mißlangen. Erst nachdem die Stämme einige Passagen auf Ascites durchlaufen hatten, gelang die Fortzüchtung auf Agar:

	nach 24 Std.	nach 48 Std.
Go_1	+ (4 Impfstr.)	(++) 4 Impfstr.
Go_2	+ (4 Impfstr.)	(++) 4 Impfstr.
Go_3	+ (2 Impfstr.)	+ (3 Impfstr.)
Go_4	+ (1 Impfstr.)	(++) ½ Impfstr.
Go_6	steril	+ —
Go_7	steril	steril
Go_8	+ —	(+) 2 Impfstr.
Go_9	steril	steril

Weiterzüchtung auf Agar

	nach 24 Std.	nach 48 Std.
Go_1	+ zart	+ g. Pl.
Go_2	sehr zart	+ 2 Impfstr.
Go_3	+ 2 Impfstr. sehr zart	+ 4 Impfstr.
Go_5	+ g. Pl. sehr zart	+ (½)
Go_6	+ 5 Impfstr. sehr zart	+ (⅔)
Go_8	+ —	+ (1 Impfstr.)

Die positiven Stämme züchtete ich weiter auf Agar:

Go_1	+ sehr zart 1 Impfstr.
Go_2	+ sehr zart 2 Impfstr.
Go_3	+ 5 E. K.
Go_5	—
Go_6	+ 2 Impfstr.
Go_8	—

Die nächste Generation blieb steril.

Daraus ergibt sich, daß die Kolonien bedeutend kleiner sind als auf Ascites und Levinthal: und daß die Stämme schon nach der zweiten und dritten Passage eingegangen sind. Schon 1903 machte Baermann die Beobachtung, daß der Gonokokkus, nachdem er mehr oder minder lange Zeit auf künstlichem Nährboden gewachsen war, sich eine ge-

wisse Affinität zu einfachen Nährböden aneignet, so daß er sogar auf reinem Agar angeht.

Segawa bestätigt diese Feststellung: Eine Erstzüchtung von Gonokokken auf gewöhnlichem Agar ist nicht möglich. Dagegen war es möglich, Gonokokken, die auf Blutagar gezüchtet waren, nach ein- bzw. mehrmaliger Ueberimpfung auf Blutagar vom Blutagar auf gewöhnlichem Agar weiterzuzüchten. Nach fünfmaliger Umzüchtung gelang die Anpassung auf gewöhnlichem Agar bei allen Stämmen. Aber diese Stämme hielten sich auf gewöhnlichem Agar nicht lange. Erst nach 25maliger Passage auf Blutagar ließen sich die Gonokokken auf gewöhnlichem Agar bis jetzt über 2 Jahre fortzüchten.

Zur Differentialdiagnose gegenüber Meningokokkus, Microkokkus catarrhalis, Diplokokkus flavus und Microkokkus cinereus ist der Lackmus-Zucker-Ascitesagar nach v. Lingelsheim von großer Bedeutung. Seine Herstellung geschieht folgendermaßen: Je ein Gramm Maltose, Dextrose und Lävulose werden, jede Zuckerart für sich, in Kölbchen mit je 10 ccm Aqua dest. durch kurzes Aufkochen gelöst. In drei weitere Kölbchen füllt man je 10 ccm Lackmuslösung und kocht diese ebenfalls kurz auf. Dann beschickt man drei Kölbchen mit je 55 ccm 3prozentigem Nähragar. Die Kölbchen mit den einzelnen Medien werden im Dampftopf sterilisiert. Die Zuckerlösung und die Lackmuslösung sterilisiert man je 15 Minuten, den Agar 30—45 Minuten. Nachdem die Kölbchen auf 50—60° abgekühlt sind, gibt man zu jedem Agarkölbchen eine der Zuckerlösungen, die Lackmuslösung und 25 ccm Ascitesflüssigkeit, gießt Platten oder füllt unter sterilen Bedingungen (wie bei Ascitesagar) zu Schrägröhrchen an. Ich benutzte für meine Versuche Schrägröhrchen, die ich dann mit Watte in Paraffin getaucht verschloß. Das Pluszeichen bedeutet die Rötung des violett gefärbten Nährbodens:

	Dextrose 48 Std.	Lävulose 48 Std.	Maltose 48 Std.
Go_1	+	steril	—
Go_2	+	—	—
Go_3			
Go_5	+	—	—
Go_6	+	—	—
Go_7	+	steril	steril
Go_8	+	—	—

	Dextrose 48 Std.	Lävulose 48 Std.	Maltose 48 Std.
Go_9			—
Go_{10}			—
Go_{11}		—	—
Go_{12}			—
Go_{13}		—	—
Go_{14}			
Go_{15}			—
Go_{16}		steril	—
Go_{17}			—
Go_{18}	(+)	—	—
Go_{19}		—	—
Go_{20}	++	—	—
Go_{21}	+	—	—
Go_{22}	(++)	—	—

Somit röten die Gonokokken den Nährboden mit Dextrose. Einige schon nach 24 Stunden, andere nach 48 Stunden. Dabei muß man beachten, daß die Nährböden nicht zu alt sind, am besten verwendet man ganz frische, da bei den älteren nur ungenaue Resultate erzielt werden. Anschließende Tabelle von Kutscher zeigt die Unterschiede der Wirkung der einzelnen Diplokokkenarten auf die Zuckernährböden:

Diplokokkenart	Gärungsvermögen gegenüber Dextrose	Maltose	Lävulose
Meningokokkus	+	+	—
Gonokokkus	+	—	—
Mikrokokkus catarrhalis	—	—	—
Diplokokkus flavus	+	+	+
Microkokkus cinereus	—	—	—

Im Laufe der Versuche stellten sich bei der Fortzüchtung der Stämme Schwierigkeiten ein, die ich mir nicht erklären konnte. Plötzlich, ohne jeden sichtbaren Grund, wurde dieser oder jener Stamm schwächer, die Kolonien wurden bedeutend kleiner oder sie gingen nur vereinzelt auf. Da war ich gezwungen, diese Stämme jeden Tag auf eine Platte zu überimpfen, da sie mir sonst eingegangen wären. Zunächst glaubte ich, daß es vielleicht an dem Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens oder der Atmosphäre liegen konnte. Aus diesem Grunde stellte ich Versuche mit Ascitesschrägröhrchen an, auf deren Boden ich ungefähr

einen halben Kubikzentimeter sterile Bouillon schüttete und die Röhrchen dann mit in Stearin getränkte Wattebäusche verschloß. Das Ergebnis war auch hier nicht anders wie bei der einfachen aeroben Platte: Die Stämme gingen auf, zeigten aber keine besondere Ueppigkeit oder Lebensdauer.

Schon die Amerikaner Wherry und Oliver (1916) versuchten Gonokokken unter anderen als aeroben Bedingungen zu züchten. Die Versuche nehmen ihren Ausgang von den Forschungen von Chudiakow, Winogradski, Prodka, Wundt, Beyerinck und anderen, nach denen die optimalen Wachstumsbedingungen einer Anzahl von Mikroorganismen weniger von der An- und Abwesenheit, als vielmehr von der vorhandenen Partial-Spannung des Sauerstoffs abhängig sind. Da nun Wherry und Oliver annahmen, daß auch die Mehrzahl der Gonokokken im menschlichen Körper bei einem Sauerstoffdruck leben wird, der kleiner als der atmosphärische ist, so griffen sie auf eine schon bekannte Methode zurück, die eine Herabsetzung der Sauerstoffspannung ermöglicht und von Novak (1908) für die Züchtung des Bacillus abortus Bang empfohlen wurde. Das noch heute gebräuchliche Verfahren Novaks besteht darin, daß die mit dem bangverdächtigen Material beimpften Nährböden zusammen mit mehreren frischen Bacillus subtilis-(Heubacillus-) Kulturen in ein fest verschlossenes Glasgefäß gebracht werden. Der wachsende Heubacillus verbraucht bestimmte Sauerstoffmengen und erzeugt somit eine Sauerstoffpartialspannung, unter der dann das Wachstum des Bangbacillus erfolgen kann. Wherry und Oliver modifizieren die Novaksche Methode in der Weise, daß sie, anstatt Gonokokken und Subtilis in ein größeres Glasgefäß zusammenzubringen, jedes einzelne Gonokokken-Schrägröhrchen durch einen Gummischlauch mit einem Subtilis-Schrägröhrchen luftdicht verbanden. Der Gasaustausch zwischen beiden Reagenzgläsern erfolgte durch die Wattestopfen hindurch. Es gelang den Autoren, trotz der Umständlichkeit des Verfahrens mit Schrägröhrchen die primäre Züchtung von drei Gonokokkenstämmen, von denen der eine nur mit der Partialtension-Methode gewonnen werden konnte, während das Wachstum der beiden anderen Stämme auch aerob, wenn auch außerordentlich spärlich erfolgt. Einer dieser Stämme ging schon bei der ersten aeroben Subkultur ein. Der nur bei reduzierter Sauerstoffspannung primär züchtbare Stamm wuchs nach acht partial-tension-Subkulturen auch aerob.

Aus diesen Versuchsergebnissen zogen Wherry und Oliver den Schluß, daß die Gonokokken partial-tension-Parasiten seien.

Angeregt durch die Ergebnisse von Wherry und Oliver versuchte Chapin, die für ein gutes Gonokokkenwachstum als nötig befundene Sauerstoffverminderung anstatt durch den Bacillus subtilis, durch Zufügung von Kohlendioxyd zu erreichen. Das Gonokokkenwachstum ging in einer Atmosphäre mit Kohlendioxyd bedeutend besser als aerob vor sich, was Chapin zunächst ganz allgemein darauf zurückführt, daß die künstlich erzeugte 10prozentige Kohlendioxydkonzentration ungefähr dem normalen, im menschlichen Gewebe herrschenden C O_2-Druck von 50—70 mm Hg entspricht.

In Deutschland war es Fr. H. Lorenz, der sich mit der Gonokokkenzüchtung in verdünnter Luft beschäftigte. Er ging von der Ueberlegung aus, daß Ansiedlung und Wachstum der Gonokokken im Menschen an luftarmen Stellen und auf feuchten Schleimhäuten bedingt ist. Demnach züchtete er Stämme auf verschiedenen Nährböden unter natürlichen Bedingungen und bei einem Manometerstand von 60 cm:

Unter natürlichen Bedingungen:

Wachstum nach 20 Std. auf:	**1. Pat.**	**2. Pat.**	**Kolonieform**
Traubenzucker	+ vereinz.	+	sehr zart
Glycerintraubenzuckeragar	—	+ vereinz.	sehr zart
Glyzerinagar	+ vereinz.	+	sehr zart
Ascitesagar	+	+	zart
Ascitesagar mit frischem Menschenblut beschickt	+	+	zart
Traubenzuckeragar mit frischem Menschenblut beschickt	vereinz.	ausgefallen	mittelgroß
Rinderserum mit frischem Menschenblut beschickt	+++	++	groß
Bei einem Manometerstand von 60 cm:			
Traubenzuckeragar	+ vereinz.	+	zart
Glyzerintraubenzuckeragar	+ vereinz.	+	zart

Glycerinagar	+ vereinz.	+	zart
Ascitesagar	+	++	groß
Ascitesagar mit frischem Menschenblut beschickt	++	+++	groß
Traubenzuckeragar mit frischem Menschenblut beschickt	+	+	groß
Rinderserum mit frischem Menschenblut beschickt	+++	++++	groß

Somit ergab sich die auffallende Erscheinung, daß die Gonokokken erstens einmal auf allen Nährböden wuchsen, und daß sie zweitens bedeutend reichlicher und in größeren und üppigeren Kolonieformen wuchsen als ihre Parallelplatten, die unter gewöhnlicher Luft bebrütet worden waren. In einem nächsten Versuch ergab sich die Tatsache, daß die Kolonien bei einem Manometerstand von 50 cm am besten wuchsen.

Aber schon nach vier Jahren teilten Delbanco und Lorenz mit, daß hier ein Fehlschluß vorgelegen hat. Das bessere Wachstum hing nicht von der verminderten Sauerstoffspannung, sondern von der Größe der Absaugkammern ab. „Je größer dieselben waren, um so mehr Luftströmung und Feuchtigkeit stand den Gonokokken zur Verfügung."

Ungermann fand, daß sich in sterilem, inaktiviertem Serum, das mit Paraffinöl überschichtet war, Meningokokken bis zu 10 Monaten, Gonokokken bis zu 42 Tagen, Pneumokokken und Streptokokken ebenfalls lange lebensfähig halten, letztere unter Erhaltung ihrer Pathogenität. Die Ursache hierfür sollte in der günstigen Kulturbedingung und dem Sauerstoffmangel liegen, in dessen Folge es nur zu sparsamer Vermehrung der Keime kommt.

Michael verwendete zur Nachprüfung von Ungermanns Methoden die gewöhnlichen Nährböden und überschichtete sie mit Paraffin. Es erwies sich dabei die Lebensfähigkeit der Gonokokken nach zwei Monaten. „Nicht nur, wie Ungermann annimmt, die günstigen natürlichen Nährstoffzusammensetzungen, durch die das Serum den künstlichen Nährsubstraten überlegen ist, ermöglicht die Dauerzüchtung beispielsweise des Gono- und Meningokokkus, sondern auf jedem der sonst gebräuchlichen Nährböden ist eine

solche Fortzüchtung möglich, sofern nur durch Entziehung von Sauerstoff eine zu rasche Vermehrung und dadurch eine zu rasche Konsumption der im Kultursubstrat vorhandenen Nährstoffe vermieden wird."

Buschke und Langer bestätigten im wesentlichen die Ungermann'schen Erfahrungen und kommen zu dem Schluß, daß wir in dem angegebenen Verfahren die Möglichkeit haben, Gonokokkenkulturen für lange Zeit lebensfähig zu erhalten. Sie nehmen auch an, daß durch die Züchtung im Serumröhrchen unter Luftabschluß die Verhältnisse im Kulturverfahren sich denen im menschlichen Körper etwas weiter nähern als im Plattenverfahren, und daß gerade der Ueberschuß an Sauerstoff, das dadurch bedingte schnelle Wachstum und das dichtgedrängte Zusammenleben der Einzelindividuen in der Oberflächenkultur es sind, die schädlich wirken.

Im Anschluß an die Arbeit der beiden letzten Autoren machte W. Klein auf eine technische Kleinigkeit zur Reinzüchtung des Gonokokkus aufmerksam. Es handelt sich um die Benutzung des altbekannten Plattengußverfahrens, im Gegensatz zum Plattenausstrich, das jetzt wohl allgemein angewandt wird. Er verwandte es in der Form, daß gewöhnlicher, zum Plattenverfahren bestimmter Agar nach Verflüssigung und Abkühlung auf 45° mit ungefähr gleichen Teilen steril filtrierten Ascites vermischt wird, und daß nun das erste Röhrchen mit einer Oese des Eiters unmittelbar beschickt wird, während ein zweites, analoges Röhrchen 6 Oesen vom Röhrchen 1 erhält. Beide Röhrchen werden in sterile Petrischalen gegossen und nach dem Erstarren verkehrt in den Brutschrank gestellt. Es gelang auf diesem Wege leicht, aus frischen sowohl wie aus chronischen und behandelten Fällen Gonokokken in Reinkultur herauszuzüchten. Der Grund neben anderen für das gute Ergebnis soll folgender sein: „Im Innern des Agars ist eine für Gonokokken günstigere Sauerstoffspannung gegenüber der Oberfläche."

Um nun eine Klärung für die Biologie der Gonokokken herbeizuführen, machte ich ganz systematisch für jeden Stamm (Go_1 bis Go_{15}) Versuche auf der aeroben-, der Fortner-, einer einfach mit Plastilin verschlossenen Platte, einer Platte mit einer Kohlendioxydatmosphäre und einer total anaeroben Platte. Um Vergleiche mit ähnlichen Versuchen, die Neumann 1935 machte, ziehen zu können, gebe

ich den Platten dieselben Bezeichnungen: Aerobe Platte = A, Fortnerplatte = B, Plastilinplatte = C, Kohlensäureplatte = D und die anaerobe Platte = E.

Zur anaeroben A-Platte wäre nichts zu sagen. Die B-Platte nach Fortner beruht auf der extremen sauerstoffzehrenden Wirkung des Bacillus prodigiosus. Bei der C-Platte machte Neumann folgende Beobachtung: Entfernt man von den mit Bakterien bewachsenen C-Platten das Plastilin, so kann man häufig, besonders wenn der Rand der Petrischale glatt ist, die Petrischalenhälfte nicht einfach abheben; die Petrischale klebt fest an der Glasscheibe, und man muß, um die Schale abheben zu können, entweder ziemliche Gewalt anwenden oder aber die Schale auf der Glasscheibe entlang etwas über den Rand schieben. In diesem Moment kann man das Einströmen von Luft in den Plattenraum deutlich als pfeifendes Geräusch hören. In der C-Platte herrscht also ein beträchtlicher negativer Druck. Das wäre nichts Besonderes, da natürlich wachsende Bakterien Sauerstoff verbrauchen. Auffallend ist aber die Beobachtung, daß auch in einer nichtbeimpften oder aus einem Grunde steril gebliebenen C-Platte (und auch D-Platte) ein beträchtlicher negativer Druck entsteht. Neumann hat den Luftdruck in der C- und D-Platte gemessen und erhielt eine durchschnittliche Luftdruckherabsetzung in der C-Platte um 32,5 mg Hg und in der D-Platte von 44,7 mm Hg. Es verschwindet also ohne irgend welche Anwendung physikalischer oder chemischer Hilfsmittel in einer luftdicht abgeschlossenen, agarenthaltenden Petrischale eine bestimmte Menge Luft oder eine bestimmte Menge einer Gasart aus dem atmosphärischen Gasgemisch, das über dem Nährboden gelagert ist. Ganz gleichgültig, ob das eine (Luftabsorption) oder andere (nämlich ausschließliche Sauerstoffabnahme) betrifft, das Resultat ist in jedem Fall eine Reduktion der ursprünglichen Sauerstoffspannung. Dadurch ist mit der C-Platte eine Methode geschaffen worden, die die Züchtung von Bakterien, speziell von Gonokokken, bei einer Partialspannung erlaubt, die nicht erst durch Saugpumpen oder sauerstoffzehrende Bakterien hergestellt werden muß. Die D-Platten, die Neumann mit linsengroßen Stückchen Kohlensäureschnee beschickte, zeigten eine Minute später einen Ueberdruck von 16,3—16,6 mm Hg. Schon nach durchschnittlich 22 Minuten war der Ausgleich mit dem atmosphä-

rischen Druck wiederhergestellt! Das Kohlendioxyd muß also vom Nährboden aufgenommen worden sein.

Wie ich schon vorher erwähnte, hat Neumann für die D-Platte ein linsengroßes Stück Kohlensäureschnee genommen. Um nun die genaue Menge Kohlensäureschnee für das optimale Wachstum der Gonokokken zu bestimmen, habe ich Versuche mit verschiedenen Mengen ausgeführt. Die Versuchsanordnung war folgendermaßen: Ich beimpfte zunächst die Ascitesschalen (1,5 cm hoch) mit den Stämmen Go_1 bis Go_9 und stellte sie auf eine einfache runde Glasplatte, wie für die einfache Plastilin(C)-Platte. Aus der Kohlensäurebombe ließ ich dann durch ein Handtuch Kohlensäure strömen, bis sich daran Kohlensäureschnee absetzte. Mit einem geeichten Löffel nahm ich nun die gewünschte Menge ab und legte sie auf die runde Glasplatte. Dann verschloß ich die Platten sofort mit dem bereitgestellten Plastilin:

Kohlensäureschnee	1 ccm	0,8 ccm	0,4 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm
Go_1	—	—	+	++	(+++)
Go_2	—	—	+	(++)	(+++)
Go_3	—	—	(++)	(++)	++
Go_5	—	—	(++)	(++)	(+++)
Go_6	—	—	(+++)	+++	+++
Go_7	—	—	+	+	+++
Go_8	—	—	+	(++)	(+++)
Go_9	—	—	+	(++)	++

Danach findet das stärkste Wachstum mit 0,1 ccm Kohlensäureschnee statt. Deshalb verwandte ich für die nächsten Versuche nur diese Menge.

Für den anaeroben Versuch bediente ich mich des Soda-Pyrogallol-Verfahrens nach von Ritter und Dorner. Hierbei tritt die Anaerobiose nach ganz kurzer Zeit ein. Nun machte ich also die Versuche mit der A-, B-, C-, D- und E-Platte mit den Reinkulturen der Stämme Go_1 bis Go_{15}:

		A aerob	B Fortner	C Plastilin	D Kohlen-säure-schnee	E Soda/ Pyrrogallol
Go_1	Asc.	++; +; +; +; ++; ++;	—; +; +; ++	++; —; ++; —; +; +++;	(+++)	—; —; —; —; —; —
	Lev.	—; ++; /	—; +; /	+++; —; /		(+); —; /
Go_2	Asc	++; ++; ++; ++;	—; —; (+++) +	—; ++; ++; +++;	(+++)	—; (+); —; —;
	Lev.	++; (++); (++);	+; (++); (++);	+++; ++; ++		—; —; —;
Go_3	Asc.	++; ++; +; ++;	+; ++; (++); ++;	+++++; ++; +++; ++; +++;	++	(+); —; —; —;
	Lev.	++; ++; (++);	++; ++; (++);	(+++); +++; +++;		—; —; —;
Go_4	Asc.	++; ++	++; +;	++; +++;		—; —;
Go_5	Asc.	+++; +++;	+++; (++);	—; —;	(+++)	—; —;
	Lev.	(++); ++; +;	++; ++; +	++; +++; (++);		—; (+)
Go_6	Asc.	++; ++;	(++); +	+++; ++;	+++;	—; —;
	Lev.	(++) ++; +	++; ++; +	+++; +++; +++;		—; —; (+)
Go_7	Asc.	++; ++;	++; (++)	+++; +++;	+++;	—; —;
	Lev.	+;	+;	(++)		—;
Go_8	Asc.	++;	(++)	(+++)	(+++)	—;
	Lev.	++; +;	(++) ++	(+++); (+++);		—; —;
Go_9	Asc.	++;	(++);	+++	+++	—;
	Lev.	+	+	++		—;
Go_{10}	Asc.	++;	(++)	(+++)	(+++)	—;
	Lev.	(++)	+	++	(+++)	—;
Go_{11}	Asc.	+	(++)	—	(+++)	—;
	Lev.	(++)	+	++	+ .	—;
Go_{12}	Asc.	+; +;	+; +;	—; (++);	++; (++);	(+); —;
	Lev.	(++)	+	++	++	—;
Go_{13}	Asc.	(++)	(++)	++	++	—;
	Lev.	(++)	+	++	++	steril
Go_{14}	Asc.	+	+	—; ++;	++	(+)
	Lev.	(++)	+	++	(+++)	—;
Go_{15}	Asc.	++	—	++	(++)	—;
	Lev.	++	+	+++	(+++)	—;

Ein Vergleich der A- und B-Platte nach 48 Stunden ergibt kaum einen Unterschied. Die B-Platte zeigt eher noch schwächeres Wachstum als die A-Platte, was man damit erklären könnte, daß die Anaerobiose in der Platte zu früh und zu stark eintritt. Also wachsen die Gonokokkenstämme nur solange, bis der Zustand der Anaerobiose eingetreten ist.

Auf der C- und D-Platte sieht man im Gegensatz zu den beiden ersten Platten ein ausgesprochen üppiges Wachstum. Die Einzelkolonien erreichen oft einen Durchmesser von 3—4 mm. Demnach scheint die geringere Sauerstoffspannung und der Gehalt an Kohlendioxyd für das Wachstum der Gonokokken eine sehr wichtige Rolle zu spielen.

In den meisten Fällen ist die E.-(Soda-Pyrogallol-)Platte steril geblieben. Nur ganz selten zeigte sich ein meistens nur mit der Lupe erkennbares Wachstum. Es kann vielleicht daran gelegen haben, daß der Plastilinverschluß nicht ganz dicht war. Also Anaerobier sind die Gonokokken auf keinen Fall. Wichtig ist bei diesen Versuchen die Feststellung, daß sich alle 15 Stämme unter den verschiedenen Züchtungsmethoden gleich verhalten.

Wie ich schon zu Beginn der Arbeit betonte, waren mir bei der aeroben Reinkulturzüchtung nicht alle Versuche gelungen. Diese Feststellung hat auch Neumann gemacht. Aus diesem Grunde legte ich gemäß seinen Versuchen für jede Reinkulturzüchtung drei Platten an, und zwar die A-(aerobe)Platte, die C-(Plastilin)Platte und die D-(Kohlensäureschnee)Platte. In Betracht kommen nur 1 cm hohe Platten mit einer durchschnittlichen Nährbodenmenge von 15 ccm. Die Glasplatten der C-Platte werden noch kurz vor dem Verschließen mit Plastilin über der Gasflamme erwärmt, so daß sie so warm sind, daß man sie gerade mit dem Daumenballen berühren kann. Aus diesem Grunde wird der Luftraum zwischen Agar- und Glasplatte verdünnt. Zu beachten ist ferner, daß das Plastilin tadellos sein muß. Ich verwandte wie zu Beginn der Versuche Ascitesagar zur Reinzüchtung. Bei der Weiterzüchtung bediente ich mich noch des Levinthalagars. In der ersten Reihe steht für jeden Stamm (Go_{16} –Go_{22}) das Ergebnis der Reinkulturzüchtung und anschließend die Fortzüchtung mit den 5 verschiedenen Platten:

		A	B	C	D	E
Go_{16}	Asc.	++		++	++	
Go_{16}	Asc.	+	+	(++)	(++)	–
	Lev.	(++)	+	(++)	++	
Go_{17}	Asc.	(+)		+++	(+++)	
Go_{17}	Asc.	(++)	(++)	—	(+++)	—
	Lev.	++	+	(+++)	(+++)	–
Go_{18}	Asc.	+—		(++)	+++	
Go_{18}	Asc.	++; ++;	+; +	(+++)	+++; ++	(+) (+)
	Lev.	+	+	++	++	—
Go_{19}	Asc.	(+ —)		—	++	
Go_{19}	Asc.	++; +	+; ++	++; —;	+++;+++	—; —;
	Lev.	+	+	++	(+++)	(+)
Go_{20}	Asc.	(++)		+++	+++	
Go_{20}	Asc.	(++)	(++)	(++)	(+++)	—
	Lev.	(++)	+	++	++	—
Go_{21}	Asc.	(+)		+++	(++)	
Go_{21}	Asc.	+	(++)	+	(+++)	—
	Lev.	(++)	+	++	(+++)	—
Go_{22}	Asc.	(+ +)		+	+	
Go_{22}	Asc.	(++)	(++)	+++	++	—
	Lev.	(++)	+	++	+++	—

Danach wächst:

Go_{16} auf allen 3 Platten fast gleich gut;

Go_{17} kaum aerob, dagegen aber sehr üppig auf der C-Platte;

Go_{18} aerob zweifelhaft, sehr üppig auf D-Platte;

Go_{19} aerob zweifelhaft, auf der C-Platte gar nicht, auf der D-Platte gut;

Go_{20} auf allen drei Platten ganz gut, etwas weniger gut aerob;

Go_{21} aerob schwach, auf der C-Platte üppig;

Go_{22} auch aerob ganz gut.

Die aerobe Fortzüchtung von Go_{18} und Go_{19} gelang nun erst nach einigen Subkulturen auf der C- oder D-Platte. Interessant ist noch die Tatsache, daß diese beiden Stämme bei einem aeroben Züchtungsversuch im Standortlazarett

nicht angingen. Nach mehreren Subkulturen zeigen die nächsten Versuche, daß die Stämme Go_{16} bis Go_{22} sich wie die Stämme Go_1 bis Go_{15} verhalten. Somit ist also scharf zu unterscheiden zwischen Primärstämmen, d. h. solchen, die frisch aus menschlichem Material auf künstlichen Nährböden zum ersten Male wachsen, und den Stämmen der weiteren Subkulturen.

Die „Ausgangsstämme" zerfallen nach Neumann in drei Gruppen: In die erste und größte Gruppe gehören die Ausgangsstämme, die praktisch fast genau so gut bei voller wie bei reduzierter Sauerstoffspannung wachsen. Es gibt hier geringe Unterschiede in der Größe der Kolonieform sowohl mit der einen als auch mit der anderen Methode, jedoch werden fast alle hierhergehörenden Stämme bei Verminderung des Sauerstoffgehalts schneller auf der C-Platte als Kolonien sichtbar. Da aber für die Züchtung dieser Stämme die aerobe A-Platte vollkommen ausreicht, werden sie kurz A-Stämme genannt. Der zweiten Gruppe gehören Gonokokkenstämme an, die als Ausgangsstämme nur bei reduzierter Sauerstoffspannung gezüchtet werden können. Sie sollen nach ihrem Wachstum auf der C-Platte mit dem Namen C-Stämme belegt werden. Da die dritte und kleinste Gruppe sich in einfachster Weise auf der D-Platte kultivieren läßt, wäre ihr biologisches Verhalten mit der Bezeichnung als D-Stämme am besten gekennzeichnet.

Werden die Ausgangsstämme weiter fortgezüchtet, so verändern sich die C- und D-Stämme in der Weise, daß erstere auch bei vollem Sauerstoffdruck wachsen und letztere gewöhnlich zuerst die Eigenschaften der C-Stämme annehmen und dann auch unter aeroben Bedingungen gedeihen. „Diese schließliche Anpassung an aerobe Verhältnisse, die gleichbedeutend mit der Entwöhnung von Zuständen ist, unter denen sich diese Gonokokken im Körper befunden haben müssen, geht entweder schon bei der ersten Subkultur oder aber erst bei den nächstfolgenden vor sich. Es wachsen somit alle primär aerob nicht züchtbaren Gonokokkenstämme, wenn sie erst mehrere Generationen unter den ihnen zusagenden Bedingungen auf künstlichen Medien durchlaufen haben, auch aerob und diese Subkulturstämme bleiben weiterhin ohne Ausnahme sowohl fakultative C-Stämme als auch fakultative D-Stämme."

Neumann fand nach vielen Versuchen 70 % A-Stämme, 19 % C-Stämme und 11 % D-Stämme. Alle Laboratoriumsstämme sind also A-Stämme.

Zusammenfassung.

Der Gonokokkus ist ein Diplokokkus von der Gestalt einer Kaffeebohne.

Er ist immer gramnegativ. Einige Autoren wollen auch grampositive Gonokokken gefunden haben.

Die Gonokokken liegen intraleukocytär und auch frei. Nie findet man sie intraepithelial.

Sie wachsen gut auf Ascitesagar, gewöhnen sich aber allmählich nach einigen Subkulturen auch an einfachere Nährböden wie an reinen Agar.

Zur Differentialdiagnose gegenüber ähnlichen Kokken ist der Lackmus-Zucker-Ascitesagar nach v. Lingelsheim von großer Bedeutung.

Die Amerikaner (1916) haben schon vor längerer Zeit Gonokokken unter anderen als aeroben Bedingungen gezüchtet.

In Deutschland hat Lorenz (1919) den Gonokokkus bei geringerem Luftdruck mit Erfolg gezüchtet.

Systematische Versuche mit der aeroben A-Platte, der Fortner B-Platte, der Plastilin C-Platte, der Kohlensäureschnee D-Platte und der anaeroben E-Platte führen zu dem Ergebnis, daß der Gonokokkus auf der C- und D-Platte am besten gedeiht.

Nach Neumann ist eine Klassifizierung der Gonokokken nur möglich, wenn man von den Primärstämmen ausgeht.

Danach gibt es drei große Gruppen von Gonokokken:

1. Die A-Stämme; sie wachsen auf der A-, C- und D-Platte.
2. Die C-Stämme; sie wachsen nur auf der C- und D-Platte.
3. Die D-Stämme; sie wachsen nur auf der D-Platte.

Die C- und D-Stämme verwandeln sich nach einigen Passagen auf den ihnen zusagenden Platten in A-Stämme. Alle alten Kulturgonokokken sind in gewöhnlicher Luft wachsende Stämme.

Schrifttum.

Attz, Martin und Hettche: Nährböden und Farben in der Bakteriologie.

Baermann: Ueber Züchtung von Gonokokken auf Agar. Zschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1903, S. 529.

Buschke und Langer: Geschichte der Gonorrhoe (M. Gumpert). 1926.
Ueber die Lebensdauer und anaerobe Züchtung der Gonokokken. D. med. Wochenschr. 1921, S. 64.

Chapin: I. inf. Dis. 23, 342 (1918).

Cohn, Alfred: Zur Biologie des Gonokokkus. Arch. f. Derm. 165, 790—796 (1932).

Delbanco und Lorentz: Zur Biologie der Gonokokken und zur Prognose der männlichen Gonorrhoe. Derm. Wschr. 1923, Bd. 77, Nr. 39, S. 1137.

Engering, P.: Die Lebensfähigkeit der Gonokokken in der Außenwelt. Zschr. f. Hygiene, 1923, Bd. 100, H. 3/4, S. 314.

Fauth: Eine Modifikation der Färbung nach Gram. D. M. W. 1918, Nr. 2.

Felke, H.: Warum liegen Gonokokken intrazellulär? M. M. W., 1931, Bd. 1.

Hach: Zur Frage der Züchtung von Gono- und Meningokokken. M. M. W. 1926, Nr. 7, S. 275.

Jundell, J. und Ahman: Ueber die Reinzüchtung des Gonokokkus. Neisser, A. f. Derm., Bd. 38, H. 1, S. 59.

Klein, W.: Gonokokkenzüchtung. D. M. W. 1921 S. 286.

Lorentz: Gonokokkenzüchtung in verdünnter Luft, M. M. W. 1919, S. 487.

Michael: Z. f. B., 1. Abt. 86, 507 (1921).

Milochevitsch, S.: Sur les transformations du Gonocoque in vivo. Compt. rend. Soc. Biol., Bd. 100, Nr. 1, S. 70.

Neumann, H.: Eine Gonokokkenkulturmethode. Derm. Wschr., Bd. 101, Nr. 29, 1935.
Neue Züchtungsmethoden für Gonokokken und Meningokokken. Klin. Wschr., 15. Jg., Nr. 2, 11. Jan. 1936.
Die Kultur der Gonokokken. A. f. Derm. und Syph. 1926, S. 393.

Scholtz: Beiträge zur Biologie der Gonokokken. A. f. Derm., Bd. 49, H. 1, 1899.
Segawa, N.: Ueber das Wachstum von Gonokokken auf gewöhnlichem Agarnährboden. Zbl. Bakter., 1. Orig. 124, 1932.
Spicca, G.: Ueber die Anspruch gemachte Gram-Positivität des Gonokokkus. Zbl. f. Hyg. 1931, S. 327.
Szilvasi, J., Oedenburg: Die morphologischen und biologischen Veränderungen der Gonokokken im Sekrete der Gonorrhoiker. M. M. W. 1934, Bd. II, S. 1148.
Szilvasi, J., Sopron: Das vitale Bild der Gonokokken. M. M. W. 1934, Bd. I, S. 262.
Ungermann: Arbeiten aus D. R. G., Bd. 51, 1919, S. 199.
Volk, B.: Zur Biologie des Gonokokkus. Derm. Z. 71, 181—188, 1935.
Wherry und Oliver: I. inf. Dis. 19, 288 (1916).
Wyss-Godat-Genf: M. M. W. 1934, Bd. 2 S. 1782.

Lebenslauf.

Am 16. Dezember 1910 bin ich, Helmut Blaseio, als Sohn des Lehrers Gustav Blaseio und seiner Ehefrau Meta, geb. Diesing, in Gr. Rogallen, Kr. Johannisburg, geboren. Im Frühjahr 1932 legte ich die Reifeprüfung der Oberrealschule zu Treuburg ab. Im April 1932 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Albertina in Königsberg und bestand im Frühjahr 1934 die Zahnärztliche Vorprüfung. Nachdem ich das Wintersemester 1934/35 in Halle a. S. zugebracht hatte, setzte ich wieder mein Studium in Königsberg fort und habe im Herbst 1936 die Zahnärztliche Staatsprüfung abgelegt.